

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 141 645** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) МПК<sup>6</sup> **G 01 N 21/55**

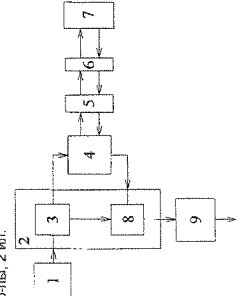
РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

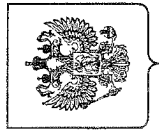
(21), (22) Заявка: 97109315/28, 11.06.1997	(71) Заявитель: Никитин Петр Иванович
(24) Дата начала действия патента. 11.06.1997	(72) Изобретатель: Никитин П.И., Кабалин А.В., Белоглазов А.А.
(46) Дата публикации: 20.11.1999	(73) Патентообладатель: Никитин Петр Иванович
(56) Ссылки: EP 0517930 A1, 16.12.92, EP 0305109 A1, 01.03.89, EP 0266196 A2, 12.10.88, RU 2022247 C1, 30.10.94, US 5061072 A, 29.10.91, DE 4439900 A1, 09.05.96.	
(98) Адрес для переписки: 127562, Москва, ул.Каргопольская, 10, кв.287, Никитину Петру Ивановичу	

(54) СПОСОБ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ, ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК  
СРЕД И УСТРОЙСТВО ДЛЯ ЕГО ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

(57) Резюме:  
Использование исследования биологических, биохимических, химических характеристик сред преимущественно биологического происхождения или контактирующих с биологическими объектами сред, параметры которых определяют жизнедеятельность биологических объектов. Сущность: производят резонансное возбуждение поверхностных плазмонных полиритонов в слое металла, покрытом веществом, чувствительным к исследуемым характеристикам среды, осуществляют интерференцию с участием луча отраженного в этих условиях излучения и параметров опорного луча, регистрируют параметры пространственного распределения интенсивности в полученной интерференционной картине, на основании которых судят об исследуемых характеристиках. Технический результат заключается в повышении чувствительности и разрешающей способности измерений, по крайней мере, на два порядка. 2 с. и 9 з.п. ф-лы, 2 ил.



Фиг. 1



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 141 645** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) Int. Cl.<sup>6</sup> **G 01 N 21/55**

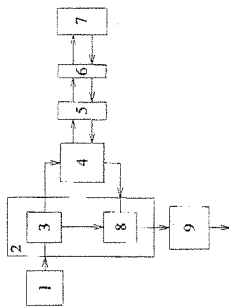
RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 97109315/28, 11.06.1997	(71) Applicant: Nikitin Petr Ivanovich
(24) Effective date for property rights: 11.06.1997	(72) Inventor: Nikitin P.I., Kabaalim A.V., Beloglazov A.A.
(46) Date of publication: 20.11.1999	(73) Proprietor: Nikitin Petr Ivanovich
(98) Mail address: 127562, Moskva, ul.Kargopol'skaja, 10, kv.287, Nikitinu Petru Ivanovichu	

(54) METHOD AND DEVICE FOR EXAMINATION OF BIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF MEDIA

(57) Abstract:  
FIELD: examination and analysis of materials. SUBSTANCE: resonance excitation of surface plasmonic polaritons is performed in layer of metal coated with substance of sensitive to examined characteristics of medium. Interference is carried out with use of radiation beam reflected under given conditions and of certain reference beam, and parameters of spatial distribution of intensity in obtained interference picture are recorded. Characteristics being examined are judged by the above-indicated parameters. Method increases sensitivity and resolution of measurements by at least two orders. EFFECT: enhanced accuracy of measurements. 11 cl, 2 dwg



Фиг. 1

Изобретение относится к методам исследования биологических, биохимических, химических характеристик сред, преимущественно биологического происхождения или контактирующих с биологическими объектами сред, параметры которых определяют жизнедеятельность биологических объектов.

Изобретение может быть использовано для определения состава и свойств сред, содержащих биологические и химические компоненты, в целях научных исследований и решения прикладных задач в микробиологии, иммунологии, медицине, биохимии, а также для экологического мониторинга. В частности, оно применимо для обнаружения и измерения концентраций биологически активных компонентов в сочетании с методами иммунологического анализа и позволяет регистрировать взаимодействие антиген с соответствующими антителами в режиме реального времени.

В известном аналоге [1] предлагаемого способа осуществляют контакт раствора, содержащего некоторый антиген, с тоном пленки антител, иммобилизованных на поверхности пластины со стеклянной призмой. На пленку воздействуют через призму лазерным излучением, возбуждают поверхностные плазменные волны (ППВ) на поверхности раздела сербара и слоя антител и наблюдают обусловленный переносом энергии излучения в ППВ резонансный минимум зависимости интенсивности отраженного излучения от угла падения излучения на пленку.

Взаимодействие антиген-антител регистрируют по сдвигу положения резонансного контура указанной зависимости. Недостатки аналога [1] как в части способа, так и в части устройства для его реализации, связаны с необходимостью использовать узлы механического вращения для сканирования и настройки по углу падения, а также компенсации смещения пятна облучения и отслеживания поворота отраженного луча. Это делает способ и устройство громоздкими и непрактичными, приводит к недостаточной надежности, низкой точности измерений и малой чувствительности метода.

В другом известном аналоге [2] излучение подают в оптический волновод, торцев которого скошен под углом, необходимым для возбуждения ППВ в системе из нанесенной на этот торцев, металлической пленки и чувствительного слоя. Последний способен реагировать с анализируемым компонентом среды и изменять тем самым условия резонансного возбуждения ППВ. Информационный сигнал выделяют из анализа излучения, отраженного назад в волновод. К недостаткам аналога [2] следует отнести усложнение способа и соответствующего устройства в части методов и средств анализа выходного оптического сигнала, а также необходимости модифицировать область селекцию излучения, что ограничивает область применения, снижает точность измерений и чувствительность метода.

Наиболее близким к предлагаемому является способ исследования биологических, биохимических или химических характеристик сред [3],

выбранный в качестве прототипа. В этом способе:

- воздействуют электромагнитным излучением через прозрачный блок на область граничной поверхности этого блока, покрытую металлическим слоем и чувствительным веществом поверх этого слоя непосредственно либо с использованием промежуточного материала,
- привносят некоторый объем или составной элемент анализируемой среды для взаимодействия с чувствительным веществом в указанной области,
- осуществляют посредством указанного воздействия поверхностно-плазмонный резонанс, параметры которого зависят от указанного взаимодействия,
- формируют сигнальный пучок посредством частичного отражения указанного излучения от указанной области при наличии указанного поверхностно-плазмонного резонанса,
- используют указанную сигнальный пучок для создания пространственной распределения электромагнитной интенсивности, характер которого определяется указанным поверхностно-плазмонным резонансом,
- а также регистрируют параметры указанного распределения, при сопоставлении которых с предварительно заданными контрольными зависимостями судят об исследуемых характеристиках.

Способ прототипа основан на том, что в пространственном распределении электромагнитной интенсивности, создаваемом с использованием отраженного пучка вдоль протяженного фотопримного массива, присутствуют особенности, связанная с возбуждением ППВ, а именно, резонансный минимум интенсивности. В одномерном распределении он проявляется в виде одной темной полосы на фоне области засветки. Способ прототипа позволяет регистрировать в каждый момент времени целиком все пространственное распределение интенсивности с резонансным контуром минимума отражения, а информацию об исследуемых характеристиках получать из анализа положения и формы резонансного контура. При этом удается избежать механических характеристик, связанных с анализом плавности сигнала, осциллирующей поперек и перемещений, и, кроме того, выходной сигнал оказывается нечувствительным к дрейфам интенсивности излучения. Перечисленные особенности относятся к важным достоинствам прототипа.

Главным недостатком прототипа является низкая чувствительность выходного сигнала к вариациям оптических параметров слоя чувствительного вещества, отражающими характеристиками исследуемой среды, т.е. как следствие, малая разрешающая способность метода. По литературным данным, в такого рода средах при использовании излучения с длиной волны 632,8 нм достигается разрешение по эффективному плазмателю концентрации не лучше  $3 \cdot 10^{-6}$ , а по хемилюминесценции, например, альбумина (антиса) при иммунологическом связывании HSA-антиса -  $10^{-10}$  моль/л. Однако, имеется ряд задач, где снижение порога обнаружения биологически активных компонентов критически важно (например, в случае вируса гепатита, поскольку даже одиночный вирус

может вызвать заболевание). Принципиальное же ограничение на порог разрешения прототипа накладывает используемый физический принцип, а именно, восприимчивость пространственного положения и/или уровня минимума интенсивности отраженного излучения к вариациям оптических параметров слоя чувствительного вещества.

Кроме того, детектирование сдвигов положения и уровня резонансного минимума сопряжено с необходимостью регистрировать весь резонансный контур, то есть большую его часть, целиком, ввиду трудности аналитического задания формы контура и практической невозможности нахождения положения и уровня минимума по малому числу точек контура. При этом порог детектирования малых сдвигов резонансного контура тем ниже, чем больше пространственный масштаб создаваемого распределения интенсивности и тем меньше размер каждого дискретного элемента протяженного фотопримного массива, поскольку пространственная разрешающая способность заданной величины коррелируется с длиной волны излучения, определяющей физическим механизмом возбуждения ППВ.

Снижение порога разрешения возможно только за счет увеличения размера фотопримного массива и устройства в целом, либо уменьшения второго. Оба пути ведут к разному ухудшению способа и устройства, а также падению отношения полезного сигнала к шуму и связываемой малоприемлемости.

Таким образом, требующий технической результат, предопределяющий недостатки прототипа, состоит в повышении чувствительности и снижении порога разрешения метода или более конкретно, в следующем: а) использовании более совершенного физического принципа формирования измеренного параметра, связанного с пространственным распределением электромагнитной интенсивности, который обеспечил бы более высокую чувствительность такого параметра к исследуемым характеристикам сред; б) использовании более гибкой методики регистрации малых изменений указанного параметра, которая обеспечила бы возможность снижения порога детектирования.

Для достижения указанного технического результата предложено способ исследования биологических, биохимических, химических характеристик сред, в том числе характеристик взаимодействия сред с поверхностями и приповерхностными слоями, в котором:

- воздействуют электромагнитным излучением через прозрачный блок на область граничной поверхности этого блока, покрытую металлическим слоем и чувствительным веществом поверх этого слоя непосредственно либо с использованием промежуточного материала,
- привносят некоторый объем или составной элемент анализируемой среды для взаимодействия с чувствительным веществом в указанной области,
- осуществляют посредством указанного воздействия поверхностно-плазмонный резонанс, параметры которого зависят от

указанного взаимодействия, формируют сигнальный пучок посредством частичного отражения указанного излучения от указанной области приповерхностно-плазмонного резонанса, используют указанный сигнальный пучок для создания пространственного распределения электромагнитной интенсивности, характер которого определяется указанным поверхностно-плазмонным резонансом, а также регистрируют параметры указанного распределения, при сопоставлении которых с предварительно заданными контрольными зависимостями судят об исследуемых характеристиках, что аналогично простому способу, отличающемуся тем,

что:

- формируют, по меньшей мере, один дополнительный - опорный - пучок излучения, осуществляют интерференцию указанного сигнала и опорного пучка и используют получаемую при этом интерференционную картину для создания указанного распределения,
- регулируют масштаб и расположение указанной интерференционной картины, подставляя относительное направление и расположение указанных сигнального и опорного пучков, с учетом требуемой чувствительности и/или разрешающей способности способа

Кроме того, излучение указанного опорного пучка отражается от указанной граничной поверхности. Кроме того, излучение указанного опорного пучка отражается от указанной граничной поверхности в условиях возбуждения поверхностных плазмонных волн.

Кроме того, вышеуказанное излучение содержит дискретный или непрерывный набор частот, а параметры указанного распределения регистрируют для ряда значений или полосы частот упомянутого набора.

Кроме того, осуществляют регистрацию исследуемых характеристик в двух измерениях, одно из которых соответствует интенсивности указанного сигнала пучка или его части, а другое соответствует сдвигу указанной интерференционной картины.

Кроме того, обеспечивают соответствие толщине указанного металлического слоя ее оптимальному значению. Кроме того, наряду с указанным сигнальным пучком используют и другой сигнальный пучок, несущий информацию об изменении внешних условий, формируют интерференционную картину, формируют свечение излучения от каждого из этих двух пучков и опорного пучка, а об исследуемых характеристиках судят по относительному смещению двух соответствующих частей интерференционной картины.

См. фиг. 1. Схема устройства, реализующего предлагаемый способ.

См. фиг. 2. Вариант устройства, реализующего предлагаемый способ.

См. фиг. 3. Схема устройства, реализующего предлагаемый способ.

См. фиг. 4. Предлагаемые способы, приведенные на фиг. 1, где

1 - источник излучения;  
2 - средство для создания пространственного распределения интенсивности;  
3 - приспособление для пространственного разделения излучения;  
4 - прозрачный блок;  
5 - чувствительный слой;  
6 - металлизированный слой;  
7 - узел для привнесения анализируемой среды;  
8 - приспособление для сведения излучения в область интерференции;  
9 - блок регистрации параметров пространственного распределения интенсивности.  
Поясним принцип действия предлагаемого способа, рассмотрим вариант устройства, реализующего предложенный способ, приведенный на фиг. 2, где  
10 - гелий-неоновый лазер;  
11, 12 - светоделикатные кубы;  
13 - стеклянная призма;  
14 - стеклянный слайд;  
15 - пленка золота;  
16 - слой антителя;  
17 - микросвета с протоком раствора, содержащего антиген;  
18 - поглощающий фильтр;  
19 - зеркало;

20 - ПЗС-матрица;  
21 - широкополосный фотодиод.  
Физический принцип, на котором основан предлагаемый способ, состоит в том, что информация об исследуемых характеристиках среды и ее взаимодействиях с чувствительным веществом на поверхности металлизированного слоя несет как амплитуда электромагнитной волны, отраженной от металлизированного слоя в условиях возбуждения ППП, так и ее фаза [4]. Поэтому в предлагаемом способе формируют пространственное распределение интенсивности, по параметрам которого судят об исследуемых характеристиках среды, таким образом, чтобы оно учитывало не только амплитуду упомянутой отраженной волны, что аналогично прототипу, но, что составляет принципиальные отличия, также и ее фазу. Средством, обеспечивающим выполнение этого принципа, служат интерферирующая узкая волна и некоторой другой опорной волны.  
Так, например (фиг. 2), анализируют биологический раствор на содержание некоторого антигена. Для этого некоторый объем анализируемого раствора приносится в микровету 17, где он взаимодействует со слоем чувствительного вещества 16. В схеме фиг. 2 таким компонентом является антиген, которое комплекстарно связывается с соответствующим антигеном. В результате происходит приращение эквивалентной толщины слоя 16. Другие типы взаимодействий могут изменять также показатель преломления или экстинкции слоя 16. В случае недостаточной селективности взаимодействия слоя 16 с анализируемой средой, в состав смеси вносят вещества, в состав которых включены лишь представляющие интерес составные элементы этой среды, например, посредством промывания. Через селективную мембрану чувствительный слой вещество 16 находится на поверхности слоя

металла 15, характеризующегося малым затуханием ППП, чаще всего, серебра или золота. Вещество 16 может быть нанесено на поверхность металла 15 непосредственно либо через промежуточный материал. Таким материалом может являться, например, тонкий слой диэлектрика на серебре для предотвращения деградации последнего, либо присоединенные к золоту белковые молекулы для иммобилизации на них антиген.  
На слой металла 15 через прозрачный блок, граничная поверхность которого совмещена с поверхностью слоя 15 (на фиг. 2 этот блок состоит из стеклянных призм 13 и слайда 14, находящихся в иммерсионном контакте между собой), воздействуют излучением от источника (например, на фиг. 2, гелий-неонового лазера 10), поляризованным в плоскости падения. Совмещение слоя 15 и упомянутого блока необходимо для возбуждения ППП. Волны границы раздела слоя 15 и 16 методом так называемого нарушения полного внутреннего отражения, поскольку именно такое совмещение позволяет при определенном значении угла падения излучения на слой 15 сопоставлять величины волновых векторов излучения и ППП.

Наличие таких условий согласования означает, что энергия падающего излучения преобразуется в ППП и, в конечном счете, поглощается в металле резонансным образом. Благодаря этому, волнам указанного резонанса угловые зависимости как амплитуды, так и фазы комплексного коэффициента отражения поля волны излучения. Первый проявляется как минимум отражения резонансный контур с минимальным отражением (геофизически, при оптимальной толщине слоя металла 16, равной нулю), а второй имеет форму ступени с перепадом в пределах указанного контура до 2х и максимальной крутизной наклона в пологихи упомянутого минимума, причем эта крутизна сильно зависит от того, насколько толщина слоя 15 соответствует оптимальной. Комплексный волновой вектор ППП и, следовательно, положение и форма (полуширина и уровень минимума) резонансного контура сильно зависят от оптических характеристик слоя 16 (толщина, показатели преломления и экстинкции), которые, в свою очередь, испытывают влияние исследуемых характеристик среды в результате взаимодействий с последней.

Таким образом, как амплитуда, так и фаза пучка, сформированного в результате частичного отражения излучения от слоя металла 15, содержит информацию об исследуемых характеристиках среды.  
Считывая информацию, содержащейся в фазе отраженной волны, в предлагаемом способе обеспечиваются посредством создания пространственного распределения электромагнитной интенсивности, зависящего от такой фазы, и регистрации параметров указанного распределения, по сравнению которых с предварительно заданными контрольными зависимостями судят об исследуемых характеристиках. Такой путь позволяет избежать зависимости информации сигнала от дрейфов интенсивности излучения, требуемого методом создания

пространственного распределения, служат интерференция отраженной волны, а качества оптической, и некоторой опорной волны, а именно информационного сигнала - один интерференционный полосу, разрешающую способность предлагаемого способа не хуже  $4 \cdot 10^{-3}$  в терминах показателя преломления, что на порядок лучше возможностей способа прототипа.  
Для достижения столь высокого разрешения важное значение имеет и другое преимущество предлагаемого способа над прототипом, а именно, гораздо большая степень гибкости в возможностях измерения малых сдвигов интерференционных полос. В самом деле, поскольку характеристика пространственного распределения интенсивности в интерференционной картине представлял собой просто sinusoidу, даже по изменениям в малом ее отрезке можно легко рассчитать аналитически общий сдвиг картины. Далее, в отличие от прототипа, где ширина резонансного контура определяет масштаб подлежащего контура распределения пространственного контура распределения интенсивности и является заданной величиной, в предлагаемом способе масштаб интерференционной картины задается просто выбором угла сведения оптического и выборного луча. Поэтому, для регистрации даже очень малых сдвигов интерференционной картины можно выбрать очень большой ее масштаб так, что размер всего фотографированного масштаба будет соответствовать лишь очень малому участку вышеупомянутой sinusoidы, но изменение сигнала с этого масштаба, соответствующее сдвигу всей картины, будет еще различим на фоне шума.

Способ измерения параметров сред на основе регистрации одной только интерференционной картины, как трудно видеть, характеризуется ограниченными динамическим диапазоном. А именно, регистрируются только те значения параметров, которые выйдут за пределы, порога ступенчатой резонансной зависимости фазы. Однако, эта трудность легко преодолевается применением комбинированного способа, включающего вышеупомянутое распределение с использованием разностной части, а широким интерференционным участком, традиционный динамический диапазон которого, зависящий от амплитуды отражения. Простейшим средством для этого является фотодиод 21 в схеме фиг. 2.

Для возможности регистрации резонансной зависимости амплитуды отражения от угла падения, а от частоты излучения. Для этого целесообразно использовать неомонхроматический источник излучения, содержащий дисперсный элемент, обеспечивающий дисперсию параметров пространственного распределения интенсивности резонансной частоты значений или полос частот амплитудного сигнала, в частности, распределенного поперекной плоскости, связанном с источником излучения со спектральной шириной, соответствующей спектральной ширине резонансного контура. Пропустив излучение, отраженное от слоя металла с возбужденным ППП, через дисперсионный элемент (призму или дифракционную

волны на  $0,7\lambda$ . Известно, что в стандартной интерферометрии трудно достичь разрешения по фазе на уровне  $2 \cdot 10^{-3}$  и лучше. Последняя цифра означает разрешающую способность предлагаемого способа не хуже  $4 \cdot 10^{-3}$  в терминах показателя преломления, что на порядок лучше возможностей способа прототипа.

Для достижения столь высокого разрешения важное значение имеет и другое преимущество предлагаемого способа над прототипом, а именно, гораздо большая степень гибкости в возможностях измерения малых сдвигов интерференционных полос. В самом деле, поскольку характеристика пространственного распределения интенсивности в интерференционной картине представлял собой просто sinusoidу, даже по изменениям в малом ее отрезке можно легко рассчитать аналитически общий сдвиг картины. Далее, в отличие от прототипа, где ширина резонансного контура определяет масштаб подлежащего контура распределения пространственного контура распределения интенсивности и является заданной величиной, в предлагаемом способе масштаб интерференционной картины задается просто выбором угла сведения оптического и выборного луча. Поэтому, для регистрации даже очень малых сдвигов интерференционной картины можно выбрать очень большой ее масштаб так, что размер всего фотографированного масштаба будет соответствовать лишь очень малому участку вышеупомянутой sinusoidы, но изменение сигнала с этого масштаба, соответствующее сдвигу всей картины, будет еще различим на фоне шума.

Способ измерения параметров сред на основе регистрации одной только интерференционной картины, как трудно видеть, характеризуется ограниченными динамическим диапазоном. А именно, регистрируются только те значения параметров, которые выйдут за пределы, порога ступенчатой резонансной зависимости фазы. Однако, эта трудность легко преодолевается применением комбинированного способа, включающего вышеупомянутое распределение с использованием разностной части, а широким интерференционным участком, традиционный динамический диапазон которого, зависящий от амплитуды отражения. Простейшим средством для этого является фотодиод 21 в схеме фиг. 2.

Для возможности регистрации резонансной зависимости амплитуды отражения от угла падения, а от частоты излучения. Для этого целесообразно использовать неомонхроматический источник излучения, содержащий дисперсный элемент, обеспечивающий дисперсию параметров пространственного распределения интенсивности резонансной частоты значений или полос частот амплитудного сигнала, в частности, распределенного поперекной плоскости, связанном с источником излучения со спектральной шириной, соответствующей спектральной ширине резонансного контура. Пропустив излучение, отраженное от слоя металла с возбужденным ППП, через дисперсионный элемент (призму или дифракционную

решетку), можно наблюдать резонансный контур зависимости интенсивности отражения от частоты излучения в направлении, перпендикулярном плоскости падения. Последствием демультиплексного формирования массива можно обеспечить режим, при котором точные измерения характеристик анализированной среды с высоким разрешением (например, детектирование наличия сверхмалых концентраций био-реактанта в растворе) проводятся на основе регистрации интерференционной картины вдоль одной координаты массива при заданной частоте, а более грубые измерения (соответственно, при наличии относительно высоких концентраций реагента) - по наблюдению резонансного контура частотной зависимости интенсивности вдоль другой координаты.

Для устранения нежелательных возможностей паразитных взаимных смещений сигнального и опорного пучков, оба пучка могут отражаться от поверхности указанного металлического слоя так, что свойства только одного из них зависят от взаимодействия анализированной среды с чувствительным веществом на поверхности этого слоя. Это достигается тем, что сигнальный пучок направляют на область металлического слоя, покрытую чувствительным веществом, а опорный падает за ее пределы. Более того, оба пучка могут определяться в условиях возбуждения ППП, чтобы в максимальные степени компенсировать паразитные смещения интерференционной картины, которые могут возникнуть из-за механических или температурных нестабильностей. Казалось бы, два отраженных от металлического слоя пучка могут взаимодействовать либо между собой, либо с третьим пучком, каждый в свою очередь интерференции. В действительности регистрируют не абсолютный, а относительный сигнал, образованный двумя интерференционными картинками, реализован в виде устройства. Для исследования биологических, химических, механических характеристик сред в том числе характеристикам взаимодействия сред с поверхностями и поверхностными слоями. Известные аналоги [1, 2] рассмотрены выше, где отмечено их недостатки. Предлагаемый вариант результатов, представляющий эти недостатки, является близким к предлагаемому является устройство [3], принятое в качестве прототипа. Оно содержит:

- источник электромагнитного излучения;
- прозрачный блок;
- металлический слой, расположенный на границной поверхности указанного прозрачного блока или его части, непосредственно либо с использованием промежуточного материала;
- чувствительное вещество, расположенное на наружной поверхности указанного металлического слоя или ее части;
- устройство, позволяющее анализировать или использовать некоторое количество среды для взаимодействия с указанным чувствительным веществом;
- причем, по меньшей мере, часть

излучения от указанного источника направлена через указанный прозрачный блок на область его граничной поверхности, покрываемую указанным чувствительным веществом, под углом, при котором имеют место поверхностно-плазмонный резонанс с взаимодвижения, сопровождаемый частичным отражением излучения от указанной граничной поверхности с формированием сигнального пучка, и, кроме того,

- средство для создания пространственного распределения электромагнитной интенсивности в указанном сигнальном пучке или его части, причем характер этого распределения определяется указанным поверхностно-плазмонным резонансом;

- а также блок регистрации параметров указанного распределения для получения на его основе выходного информационного сигнала.

Известное устройство работает следующим образом. Излучение от источника подается через прозрачный блок (содержащий, например, стеклянные призму и слой), находящийся в иммерсионном контакте) на находящийся на его граничной поверхности (например, на поверхности слоя) слой металла под углом, обеспечивающим возбуждение ППП в соответствии с конфигурацией нарушенного полного внутреннего отражения. На поверхности металла находится слой чувствительного вещества, который взаимодействует с анализированной средой, а вза-зимодействие анализированной среды с чувствительным веществом влияет на свойства ППП и того пучка, который формируется в результате частичного отражения падающего излучения.

Конкретно от свойств среды ощущается зависимость комплексный волновой вектор ППП, который определяет положение и форму резонансного контура с минимумом в угловой зависимости отраженного излучения. Для регистрации резонансного контура в устройстве-прототипе используется средство для формирования пространственного распределения интенсивности с использованием пучка отраженного излучения. Оно содержит компоненты для задания пространственной ширины и фокусировки пучка падающего излучения на металлическом слое так, что обеспечивается наличие диапозона углов падения внутри которого содержится резонансный контур или его часть. После

расширения пучка, который отражается на формированном устройстве, способном регистрировать диапазон углов, способный для получения информации об исследуемых характеристиках среды из особенностей резонансного контура интенсивности отраженного излучения. Примером может служить поставленный фотографический массив, состоящий из большого числа дискретных фотографических миниатюр, где положение резонансного минимума интенсивности отраженного пучка задается номером такой миниатюры. Выходной информационный сигнал получают на основе анализа

положения и/или уровня резонансного минимума интенсивности. Известное устройство имеет недостатки, подробно рассмотренные выше при анализе способа прототипа. Впервые они сводятся к малой чувствительности и недостаточной разрешающей способности, а также тому, что выделенный контур для снижения торгового резонансного контура пространственного распределения светового пространства требует увеличения интенсивности, требующей маскировки и устройства в целом, и увеличение числа фотографических миниатюр при уменьшении их размера, а это ведет к разному ухудшению устройства и падению отношения сигнала к шуму. Указанные недостатки преодолеваются в предлагаемом устройстве, которое содержит:

- источник электромагнитного излучения;
- прозрачный блок;
- металлический слой, расположенный на граничной поверхности указанного прозрачного блока или ее части, непосредственно либо с использованием промежуточного материала;
- чувствительное вещество, расположенное на наружной поверхности указанного металлического слоя или ее части;
- непосредственно либо с использованием промежуточного материала;

- узел для привнесения некоторого объема или составного элемента анализированной среды для взаимодействия с указанным чувствительным веществом;

- причем, по меньшей мере, часть излучения от указанного источника направлена через указанный прозрачный блок на область его граничной поверхности, покрываемую указанным чувствительным веществом, под углом, при котором имеют место поверхностно-плазмонный резонанс с взаимодвижения, сопровождаемый частичным отражением излучения от указанной граничной поверхности с формированием сигнального пучка, и, кроме того,

- средство для создания пространственного распределения электромагнитной интенсивности в указанном сигнальном пучке или его части, причем характер этого распределения определяется указанным поверхностно-плазмонным резонансом;

- а также блок регистрации параметров указанного распределения для получения на его основе выходного информационного сигнала, что аналогично прототипу.

Отличие от прототипа состоит в том, что указанное средство включает блок формирования, по меньшей мере, одного доплерованного - опорного - пучка излучения, а также блок сведения излучения указанного сигнального и опорного пучков, и выполненное с возможностью регулирования относительного направления и расположения указанных сигнального и опорного пучков, а указанный блок регистрации расположен в области сформированной при этом интерференционной картины.

Кроме того, устройство выполнено с возможностью изменения угла, задающего направление излучения от указанного источника относительно указанного граничной поверхности. Это необходимо для настройки

на рабочем положении по углу падения или присоединения резонансного контура угловой зависимости интенсивности отраженного пучка. Кроме того, указанный источник электромагнитного излучения может быть выполнен с возможностью задания частот выходного излучения, а указанный блок регистрации параметров указанного распределения выполнен с возможностью приводить угловую регистрацию для ряда значений или полос частот упомянутого набора. Это целесообразно для регистрации резонансных особенностей на угловой а частотной зависимости интенсивности отраженного пучка. В частности, как отмечалось выше, это позволяет реализовать комбинированный режим, где наблюдение интерференционной картины на какой-либо частоте внутри резонанса обеспечивает высокую точность, а регистрация резонансного контура частотной зависимости - широкий динамический диапазон измерений.

Кроме того, устройство может быть выполнено так, что взаимное расположение его элементов обеспечивает участие в интерференции между собой либо с участком, других пучков, двух пучков излучения, отраженных от взаимодействия анализированной среды так, что взаимодействие анализированной среды с указанным чувствительным веществом способно влиять на свойства только одного из двух указанных пучков излучения, а каждый из участвующих пучков участвует в интерференции пучков излучения отпачивается от остальных расположений и/или направлением в пространстве. В частности, каждый из двух указанных пучков может быть отражен от указанного металлического слоя в конфигурации возбуждения поверхностных плазмонных поляритонов. Так, чтобы только один из них расположен так, чтобы только один из них претерпевал отражение с возбуждением ППП в системе металл - чувствительное вещество, находящейся под воздействием двух анализированной среды. Использование двух пучков, отраженных от одного и того же слоя металла, для интерференции их между собой или с третьим пучком, позволяет уменьшить влияние паразитных эффектов механических или температурных нестабильностей.

В качестве приспособления для пространственного распределения излучения на два или большее число пучков, как используют такие элементы, как, например, частично отражающая пластинка или светораспределительный куб (фиг. 2), или совокупность нескольких таких элементов. Для пространственного сведения пучков, светораспределительный куб (фиг. 2), зеркала, приспособления типа бихрмизы френеля и т.п. Параметры интерференционной картины целесообразно регистрировать протяженным фотографическим массивом, таким, как массив фотодиодов или ПЗС-матрица. Как обсуждалось выше, такое устройство позволяет достигнуть разрешения, по крайней мере, на два порядка пуще по сравнению с прототипом. Важное значение имеет достижения такого разрешения имеет возможность задавать период

интерференционной картины и, следовательно, масштаб анализируемого пространственного распределения интенсивности установок желаемого угла сохождения интерферирующих пучков. Это достигается в пределах одного и того же устройства посредством простой и сложной направляющей зеркала (элемент 19 на фиг. 2).

Таким образом, показано обеспечение требуемого технического результата за счет осуществленных отличий предлагаемого устройства.

#### Источники информации

1. B. Liedberg, C. Nylander, and I. Lundström, Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing, Sensors and Actuators, 4 (1983) 236-304.

2. Заявка PCT WO 89/07252, кл. G 01 N 21/17, 1989.

3. Patent EP 0305 09 B1, кл. G 01 N 21/55, 1993 (prototype).

4. F. Abeles and T. Lopez-Rios, Ellipsometry with surface plasmons for the investigation of superficial modifications of solid plasmas, в сборнике "Plasmons", Proceedings of the First Taormina Research Conference on the Structure of Matter, October 2-6, 1972, Taormina, Italy, edited by E. Burstein and F. de Martini (Pergamon Press, New York, 1974), pp. 241-246.

#### Формула изобретения:

1. Способ исследования биологических, биохимических, химических характеристик сред, в том числе характеристик приповерхностных слоев, в котором воздействуют электромагнитным излучением через прозрачный блок на область границы поверхности этого блока, покрытую металлическим слоем и чувствительным веществом поверх этого слоя, непосредственно либо с использованием промежуточного материала, привносят некоторый объем или составной элемент анализируемой среды для взаимодействия с чувствительным веществом в указанной области, осуществляя посредством указанного воздействия

поверхностно-плазмонный резонанс, параметры которого зависят от указанного взаимодействия, формируют сигналный пучок посредством частичного отражения указанного излучения от указанной области при наличии

поверхностно-плазмонного резонанса, используют указанный сигналный пучок для создания пространственного распределения электромагнитной интенсивности, характер которого определяется указанным поверхностно-плазмонным резонансом, а также регистрируют параметры указанного распределения, при сопоставлении которых с предварительно заданными контрольными зависимостями судят об исследуемых характеристиках, отличающийся тем, что формируют, по меньшей мере, один дополнительный, опорный, пучок излучения, осуществляют интерференцию указанных сигналного и опорного пучков и используют получаемую при этом интерференционную картину для создания указанного распределения, регулируют масштаб и расположение указанной интерференционной картины, подстраивая относительно

направление и расположение указанных сигналного и опорного пучков, с учетом требуемой чувствительности и/или разрешающей способности способа.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что излучение указанного опорного пучка отражается от указанной граничной поверхности.

3. Способ по п.2, отличающийся тем, что излучение указанного опорного пучка отражается от указанной граничной поверхности в условиях возбуждения поверхностных плазменных волн.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что вышеупомянутое излучение содержит дискретный и/или непрерывный набор частот, а параметры указанного распределения регистрируют для ряда значений или полюсов частот упомянутого набора.

5. Устройство для исследования биологических, биохимических, химических характеристик сред, в том числе характеристик взаимодействий сред с поверхностями и приповерхностными слоями, содержащее источник электромагнитного излучения, прозрачный блок, металлический слой, расположенный на граничной поверхности указанного прозрачного блока или ее части непосредственно либо с использованием промежуточного материала, чувствительное вещество, расположенное на наружной поверхности указанного

металлического слоя или ее части непосредственно либо с использованием промежуточного материала, угол для привнесения некоторого объема или составного элемента анализируемой среды для взаимодействия с указанным чувствительным веществом, причем, по меньшей мере, часть излучения от указанного источника направлена через указанный прозрачный блок на область его граничной поверхности, покрывающую указанным чувствительным веществом, под углом, при котором имеет место резонанс с поверхностно-плазмонной характеристикой, зависящими от указанного взаимодействия, сопровождаемый изменением направления от указанного граничного слоя, и, кроме того, средство для создания пространственного распределения электромагнитной интенсивности в указанном сигналном пучке или его части, причем характер этого распределения определяется указанным поверхностно-плазмонным резонансом, а также блок регистрации параметров указанного распределения для получения на его основе выходного информационного сигнала, отличающийся тем, что указанное средство включает блок формирования, по меньшей мере, одного дополнительного, опорного, пучка излучения, а также блок сведения излучения указанного сигналного и опорного пучков и выполнения с использованием результатов такого сведения направления и расположения указанных сигналных и опорного пучков, а указанный блок регистрации расположен в области формирования указанной картины при интерференции пучков.

6. Устройство по п.5, отличающееся тем, что оно выполнено с возможностью изменения угла, задающего направление

излучения от указанного источника относительно поверхности указанной граничной поверхности.

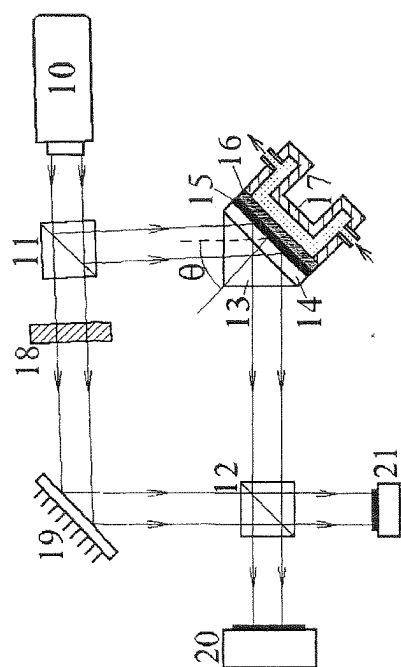
7. Устройство по п.6, отличающееся тем, что указанный источник выполнен с возможностью задания дискретного или непрерывного набора частот выходного излучения, а указанный блок регистрации выполнен с возможностью производить упомянутую регистрацию для ряда значений или полюсов частот упомянутого набора.

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что осуществляют регистрацию исследуемых характеристик в двух измерениях, при этом точные измерения проводятся на основе регистрации интерференционной картины вдоль одной координаты при заданной частоте, а более грубые измерения - по наблюдению резонансного контура частотной зависимости интенсивности вдоль другой координаты.

9. Способ по п.1, отличающийся тем, что обеспечивают соответствующее толщину указанного металлического слоя ее оптимальному значению.

10. Способ по п.1, отличающийся тем, что наряду с указанным сигналным пучком используют и другой сигналный пучок, несущий информацию об изменении внешнего условия, указанную интерференционную картину формируют сведением излучения от каждого из этих двух пучков и опорного пучка, а об исследуемых характеристиках судят по относительному смещению двух соответствующих частот интерференционной картины.

11. Способ по п.1, отличающийся тем, что осуществляют регистрацию исследуемых характеристик в двух измерениях, при этом точные измерения проводятся на основе регистрации интерференционной картины вдоль одной координаты при заданной частоте, а более грубые измерения - по наблюдению резонансного контура частотной зависимости интенсивности вдоль другой координаты.



Фиг. 2